CAPÍTULO XXII

APLICACIONES PRÁCTICAS DEL RADIOINMUNOENSAYO DE PROGESTERONA EN EL MEJORAMIENTO DE LA PRODUCCIÓN BOVINA[1]

Mario García Podesta

1 Parcialmente extraído de un artículo publicado por el autor en Lescano, C.E. y Holmann, F. (eds). Conceptos y metodologías de investigación en fincas con sistemas de producción animal de doble propósito. Cali (Colombia). Centro Internacional de Agricultura Tropical – Consorcio Tropileche, 1997.

I. INTRODUCCIÓN

El radioinmmunoensayo (RIA) o radioinmunoanálisis consiste en una reacción antígeno-anticuerpo en la cual dos antígenos, uno marcado con un isótopo radiactivo y otro no marcado compiten por sitios de unión de un anticuerpo. La técnica tiene una alta sensibilidad y especificidad, requiere cantidades pequeñas de muestras para el análisis y no es contaminante. Desde el punto de vista clínico y de investigación aplicada a la solución de problemas en fincas, la progesterona es la más importante entre las múltiples hormonas reproductivas y metabólicas que intervienen en el proceso reproductivo, ya que permite hacer un seguimiento preciso de la función reproductiva de las vacas. La progesterona es producida en el ovario por el cuerpo lúteo que se forma poco después de la ovulación, y su concentración en la sangre varía de acuerdo al estadio del ciclo estrual y estado reproductivo, teniendo valores muy bajos alrededor de la ovulación, y elevados a mitad del ciclo y durante la gestación. La secreción de la progesterona es continua en animales gestantes, en tanto que en animales vacíos varía de acuerdo al ciclo estrual.

En el presente Capítulo se describen aplicaciones prácticas del RIA de progesterona en apoyo a la búsqueda de soluciones prácticas para la mejora de la eficiencia productiva y reproductiva del ganado bovino.

II. UTILIZACIÓN DEL RIA DE PROGESTERONA

El perfil de progesterona en base a muestras seriadas recolectadas a un mismo animal facilita el entendimiento de la fisiología reproductiva del ganado y permite hacer una evaluación objetiva del estado reproductivo de las hembras de las especies en estudio. Dentro de sus principales aplicaciones se encuentran las siguientes:

- Determinación del inicio de la pubertad
- Evaluación del comportamiento post parto
  - Anestro
  - Reinicio de la actividad ovárica
  - Primera ovulación
  - Concepción
- Medición de la eficiencia de la detección del celo
- Evaluación de la eficiencia del Servicio de Inseminación Artificial
- Diagnóstico precoz de no gestación
- Estudio de problemas de fertilidad
  - Ciclicidad / aciclicidad
  - Quistes foliculares / luteales
  - Respuesta a tratamientos clínicos
- Sincronización de celo y transferencia de embriones

La determinación de progesterona se puede realizar en muestras de leche y sangre (suero o plasma). En la Figura 1 se observa el perfil básico de la progesterona en el post parto y algunos problemas reproductivos que pueden identificarse a través del análisis de la progesterona como anestro patológico, anestro post servicio, reinicio tardío de la actividad sexual, quistes ováricos, persistencia del cuerpo lúteo y muerte embrionaria. Este tipo de perfiles permite además, determinar el intervalo entre el parto y la primera ovulación, el intervalo entre el parto y la concepción (días vacíos), el número de ovulaciones previas a la concepción, y la eficiencia de la detección de celo. En animales con monta libre se puede determinar asimismo la fecha estimada de concepción.

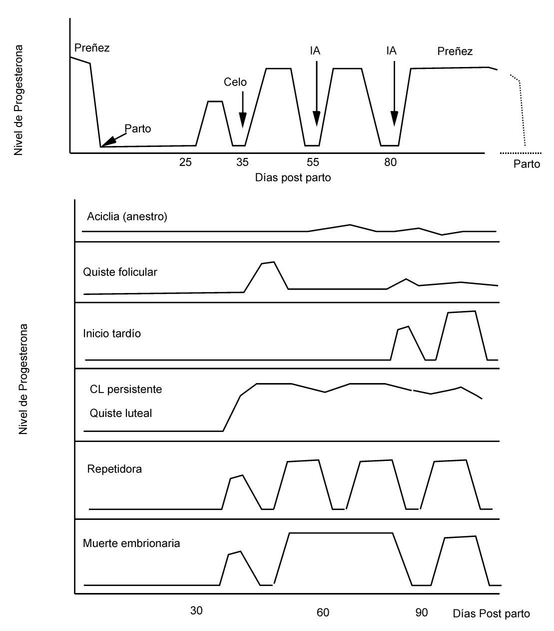


Figura 1. Perfiles de progesterona en vacas con actividad ovárica post parto regular (panel superior) y con problemas reproductivos (panel inferior).

En términos generales se puede indicar que valores 3 nmol/L son indicativos de actividad luteal, es decir, que significan la presencia de un cuerpo lúteo activo en los ovarios; en tanto que valores nmol/L indican la ausencia de actividad luteal. Sin embargo, la literatura indica diferencias entre razas y entre especies en los valores de progesterona durante los diferentes estados reproductivos [2]. Por ejemplo, las concentraciones de progesterona tienden a ser más bajas en ganado cebú que en ganado de tipo europeo, y las del ganado bubalino aún más bajas que las del cebú; no obstante, es importante indicar que parte de estas diferencias pueden deberse al tipo de radioinmunoensayo utilizado. Por lo tanto, cada laboratorio debe establecer sus propios valores de definición a través de la correlación entre los valores de progesterona y la información clínica/fisiológica obtenida mediante registros de campo, observación del comportamiento sexual, fechas de

servicio / monta, palpación rectal, ultrasonido, etc., y no extrapolar valores entre laboratorios.

El número de muestras requerido para determinado análisis depende del tipo de información que se desea obtener a través de los perfiles de progesterona. Información apropiada sobre los eventos reproductivos postparto del ganado vacuno se consiguen por lo general con 1-2 muestras por semana, dependiendo de la exactitud requerida y del intervalo esperado entre el parto y la primera ovulación. La definición del perfil hormonal del ciclo estrual requiere de muestras diarias, mientras que para identificar la proporción de animales gestantes, vacíos con actividad cíclica y vacíos en anestro en un rebaño o localidad es necesario tomar cuatro muestras con intervalos de 10 días. Por otro lado, una muestra es suficiente para el diagnóstico de no-gestación, en tanto que se necesitan tres muestras para evaluar la eficiencia de la inseminación artificial, como se verá más adelante.

El RIA de progesterona ha sido utilizado en innumerables trabajos de investigación en América Latina [1, 4-9]. La mayoría de los análisis de progesterona de estos estudios y los indicados en este documento se hicieron con el kit de RIA de progesterona del OIEA [10].

III. APLICACIONES PRÁCTICAS DEL RIA DE PROGESTERONA

1. Diagnóstico de no-gestación

Es una prueba sencilla que sólo requiere la toma de una muestra (a los 21-24 días del servicio en el caso de vacas), aunque se recomienda una segunda muestra en el día del servicio para verificar que éste no ocurrió durante la fase luteal (Figura 2). Niveles bajos de progesterona a los 21-24 días del servicio son incompatibles con gestación y por lo tanto el diagnóstico de no-gestación tiene una confiabilidad cercana al 100%. Esta prueba puede ser ventajosa en animales elite o en aquellos sometidos a programas de transferencia de embriones ya que permite tomar acciones inmediatas para realizar un servicio adicional a la brevedad posible. Los niveles altos de progesterona en el día 21-24 son compatibles con gestación pero no son concluyentes para diagnosticar la preñez del animal. Niveles altos en ese período pueden presentarse por efecto de una fase luteal larga o de un servicio anovulatorio seguido de ovulación sin celo detectado; de allí que la confiabilidad para certificar preñez se encuentra entre el 50 y 80%.

2. Evaluación de prácticas de alimentación y manejo animal a través del comportamiento reproductivo

La investigación en fincas es probablemente la herramienta más apropiada para encontrar las soluciones a los problemas que afectan la productividad animal. Sin embargo, las diferencias abismales existentes entre fincas, así como la imposibilidad de controlar factores ajenos a la investigación dificultan la conducción de experimentos y la interpretación de los resultados, de allí que muchos investigadores prefieran trabajar en fincas experimentales. La FAO / OIEA ha diseñado una metodología de trabajo con apoyo del RIA de progesterona que permite obtener información precisa del comportamiento productivo y reproductivo de los re-

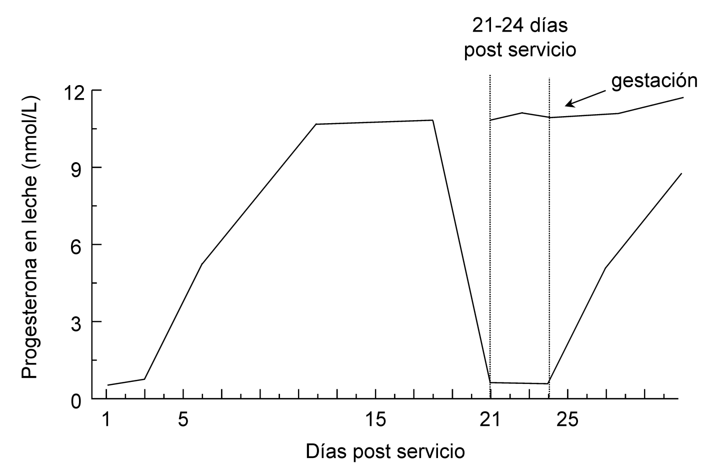


Figura 2. Perfiles de progesterona post servicio en vacas gestantes y vacías, y su uso para el diagnóstico de no-preñez.

baños, así como la identificación de los principales problemas que afectan su eficiencia. Pieza clave de este esquema es que los investigadores conozcan el sistema de producción, comprendan la idiosincracia de los productores y los aspectos socio-económicos de la población en estudio [3].

El levantamiento de información debe hacerse en fincas representativas del sistema de producción en estudio y utilizando animales promedio. En el caso de ganado vacuno, se requiere no menos de 100 vacas multíparas en el último tercio de la gestación distribuidas en el menor número posible de fincas. El esquema de trabajo para las diferentes observaciones / muestreos está indicado en el Cuadro 1. Adicionalmente se debe registrar información general de las fincas y de los animales seleccionados.

Los cambios en la condición corporal son mejores indicadores del estado nutricional del animal que los cambios en el peso corporal, especialmente en ganado mestizo y nativo, en los cuales la conformación corporal y el peso son muy variables entre animales de la misma edad. El perfil de progesterona le indica al investigador la duración del anestro postparto, el reinicio de la actividad cíclica, la eficiencia de la detección del celo y la concepción del animal. La información obtenida a través del análisis de ciertos metabolitos sanguíneos (-hidroxi-butirato, urea, albúmina, globulinas) y minerales (fósforo inorgánico) ilustran la habilidad de la vaca para tolerar la fuerte demanda de nutrientes durante el pico de la lactación. Al mismo tiempo, las muestras de los alimentos (pasturas, concentrados y suplementos) analizados por materia seca, degradabilidad, materia orgánica, nitrógeno y cenizas proporcionan información válida sobre la disponibilidad de los nutrientes y la calidad del alimento a través del año.

Un muestreo de este tipo, llevado a cabo por un equipo multidisciplinario puede proporcionar información suficiente para realizar un análisis exhaustivo del comportamiento productivo y reproductivo del rebaño. La encuesta proporciona una base sólida para solucionar problemas y errores simples de manejo, para plan-

Cuadro 1
Mediciones y observaciones recomendadas para la evaluación del comportamiento productivo y reproductivo y para la identificación de factores que afectan la productividad del rebaño

Mediciones/Observaciones	Frecuencia
Progesterona (leche o plasma)	Semanal (desde los 15 días postparto hasta la confirmación de la preñez)
Metabolitos nutricionales	a) 1-2 semanas previas al parto b) 10-20 días postparto c) 2-3 meses postparto
Conducta sexual	Diariamente
Palpación rectal	Desde los 45-60 días postparto y mensual hasta la preñez
Peso y condición corporal	Pre-parto, al parto y mensual
Peso del ternero	Al nacimiento y mensual
Producción de leche	Quincenal
Alimentos	Mensual en cada finca (se pueden combinar las muestras si son uniformes)

tear experimentos e intervenciones técnicas, y en general, para delinear las prioridades de investigación tendientes a solucionar problemas de la ganadería.

Resultados obtenidos a través de un trabajo de investigación coordinada en 13 países del Asia y América Latina mostraron niveles elevados de globulinas en mas del 17% de las vacas, indicando la ocurrencia de enfermedades inflamatorias. Por otro lado, en la mayoría de los países se encontraron niveles elevados de -hidroxi-butirato en el periodo pre-parto, resaltando la pérdida de condición corporal en el último tercio de la gestación, y por lo tanto problemas potenciales de fertilidad y productividad [11].

3. Mejoramiento del Servicio de Inseminación Artificial

Las ganaderías especializadas en producción de leche y gran parte de los rebaños de doble propósito tienen acceso a la inseminación artificial para la mejora genética de los animales. Sin embargo, diversos factores socio-económicos, gerenciales y biológicos afectan la calidad de la técnica reduciendo su efectividad y el número de productores que la utilizan. El desarrollo de acciones para mejorar la eficiencia de la inseminación artificial tienen que estar basados en el conocimiento de las causas de su ineficiencia.

El RIA de progesterona a través de muestras de leche (y sangre en hembras nulíparas) proporciona beneficios substanciales en la evaluación de la eficiencia de los servicios de inseminación artificial, en la identificación de los factores que los afectan y en el seguimiento de las intervenciones técnicas para su solución. Como resultado de estas intervenciones se puede obtener una mejora de la eficiencia en la detección de celos y del momento adecuado para la realización de la inseminación artificial. Esto conduce a un notable incremento en el número de

animales inseminados y en el mejoramiento de la tasa de concepción. Además, permite la identificación de animales en anestro patológico para la toma de medidas correctivas como cambios en la dieta alimenticia y tratamiento hormonal.

Un muestreo con un número no menor de 500 animales que son sometidos a la primera inseminación artificial permite evaluar la eficiencia de este servicio. En el muestreo se registra información relativa a la finca, el inseminador, el reproductor, el semen, el animal inseminado y las características del celo, en combinación con un juego de tres muestras para el análisis de progesterona. Estas muestras se deben recolectar el día del servicio, a los 10-12 y a los 22-24 días posteriores al servicio. Básicamente, la muestra del día del servicio permite identificar si el animal fue incorrectamente inseminado, es decir durante la fase luteal; el uso de dos muestras permite diferenciar si el animal se encontraba ciclando; y el uso de tres muestras más el diagnóstico de gestación por rectopalpación permite identificar la ocurrencia de mortalidad embrionaria, servicios en animales gestantes y deficiencias en la detección de celos (Cuadro 2). El programa de informática AIDA (Artificial Insemination Database Application) fue desarrollado por la FAO / OIEA en apoyo de esta actividad para facilitar el registro de la información, el análisis de los datos y la preparación de informes sobre resultados[2]

Cuadro 2
Evaluación del Servicio de Inseminación Artificial (IA) a través del RIA de progesterona (alto: >3 nmol/L; bajo <1 nmol/L) en base a un juego de tres muestras de leche (o sangre) tomadas a diferentes intervalos del servicio

Nº de Muestras	Día de toma de muestra			Diagnóstico	Interpretación
	0	10-12	22-24	de preñez	
Tres	Bajo	Alto	Alto	Positivo	Preñada
	Bajo	Alto	Bajo	Negativo	Sin fertilización, muerte embrionaria temprana, anestro post parto
	Bajo	Alto	Alto	Negativo	Muerte embrionaria tardía (>día 16)
	Alto	Alto	Alto	Positivo	IA en animal gestante
Dos	Bajo	Alto	—	—	Ciclo ovulatorio
	Bajo	Bajo	—	—	Anestro, anovulación, fase luteal corta
	Alto	Alto	—	—	IA en animal gestante, quiste luteal
	Alto	Bajo	—	—	IA hecho en fase luteal
Una	Bajo	—	—	—	IA no realizada durante la fase luteal
	Alto	—	—	—	IA realizada durante la fase luteal

2 Copia de este programa y el manual de instrucciones puede ser obtenido a través de la Sección de Producción y Salud Animal, División Conjunta FAO / OIEA, Wagramer Strasse 5, P.O. Box 100, A-1400, Viena, Austria, o directamente con el autor. Fax 511-435.3061, 365.0293. E-mail: garciam@terra.com.pe

Los resultados de un programa coordinado de investigación en siete países de América Latina y siete del continente asiático [9], mostraron una alta variabilidad en el intervalo del parto al primer servicio (120 ± 82 días, 7,992 observaciones), en las tasas de concepción al primer servicio (rango: 15-62%, promedio: 40.9%) y en los intervalos entre el primer y segundo servicio (44.6 ± 44.4 días). Los análisis de progesterona en más de 8,000 servicios de inseminación artificial indicaron que el 17.3% de los servicios se hicieron en animales que no estaban en celo (gestantes, en anestro o con cuerpo lúteo), el 27.4% de los servicios resultaron inefectivos pero los celos subsecuentes no fueron observados y por lo tanto, los animales no fueron re-inseminados por largos períodos de tiempo (60-130 días). El 10.1% estuvieron asociados a muertes embrionarias tardías, y en cuatro de estos países el 5% de los servicios se realizó en animales gestantes. Estos resultados indicaron que cerca de la mitad de los servicios estuvieron asociados a errores de manejo, deficiencias en la detección de los celos y fallas técnicas de los inseminadores, afectando seriamente la eficiencia de la inseminación artificial.

IV. A MANERA DE CONCLUSIÓN

El radioinmunoensayo de progesterona facilita la evaluación del comportamiento reproductivo, el manejo reproductivo de fincas y la medición de la respuesta reproductiva a intervenciones técnicas en diversos tipos de estudios y trabajos de investigación. Además de esto, puede convertirse en una herramienta de valor práctico para el productor en apoyo del mejoramiento de la eficiencia productiva y reproductiva del ganado bovino. Entre estos últimos se tiene, a) El diagnóstico de no-gestación en base a muestras recolectadas a los 21-24 días post servicio, y que presenta una confiabilidad cercana al 100%; b) La identificación de deficiencias en las prácticas de alimentación y manejo animal y la evaluación de las medidas correctivas mediante un protocolo de trabajo que incluye determinaciones de metabolitos nutricionales sanguíneos, determinación de progesterona y análisis bromatológico de los alimentos; y c) La evaluación de la eficiencia de los programas de inseminación artificial mediante muestras de leche recolectadas en el día del servicio, y a los 10-12 y 22-24 días post servicio.

V. LITERATURA CITADA

[1] Delpino, A. y González-Stagnaro, C. 1993. Evaluación del comportamiento reproductivo en pequeños rumiantes tropicales utilizando los perfiles de progesterona. Revista Científica Facultad de Ciencias Veterinarias-LUZ. (Maracaibo, Venezuela), 3: 231-247.

[2] Dobson, H. y Kamonpatana, M. 1986. A review of female cattle reproduction with special reference to a comparison between buffaloes, cows and zebu. J. Reprod. Fert. 77:1-36.

[3] García, M. 1999. Preface. Preventive Veterinary Medicine 38: 81-84.

[4] García, M., Huanca, W. y Echevarría, L. 1990. Reproductive performance of purebred and crossbred Zebu cattle under artificial insemination in the Amazon tropic. Anim. Prod. 50:41-49.

[5] García M., Jayasuriya, M.C.N. y Perera, B.M.A.O. 1995. Improving animal production by nuclear techniques. IAEA Yearbook 1995. B17-B32. Viena.

[6] International Atomic Energy Agency. 1990. Livestock Reproduction in Latin America. Viena. 446 pp.

[7] International Atomic Energy Agency. 1992. Feeding strategies for improving ruminant productivity in areas of fluctuating nutrient supply. IAEA-TECDOC-691. Viena. 160 pp.

[8] International Atomic Energy Agency. 1996. Development of Feed Supplementation Strategies for Improving Ruminant Productivity on Samllholder Farms in Latin America trhough the Use of Immunoassay Techniques. IAEA-TECDOC-877. Viena 182 pp.

[9] International Atomic Energy Agency. 1999. Proceedings of the Final Research Coordination Meeting of the FAO/IAEA Coordinated Research Programme on "Use of RIA and related techniques to identify waysof improving Artificial Insemination Programmes for cattle reared under tropical and sub-tropical conditions", Uppsala, Sweden, 10-14 May 1999.

[10] Plaizier, J.C.B. 1993. Validation of the FAO/IAEA RIA kit for the measurement of progesterone in skim milk and blood plasma. En: Improving the Productivity of Indigenous African Livestock, IAEA-TECDOC-708, IAEA, Vienna, 151-156.

[11] Whitaker, D.A., Goodger, W.J., García, M., Perera, B.M.A.O. y Wittwer, F. 1999. Use of metabolic profiles in dairy cattle in tropical and subtropical countries on smallholder dairy farms. Prev. Vet. Med. 38: 119-131.